

**PENGARUH PEMANASAN TERHADAP KADAR VITAMIN E PADA KACANG HIJAU (*Vigna radiata* L.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

Eka Prasetyo Agung Pambudi\*, Pri Iswati Utami\*, Dwi Hartanti\*

*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuwaluh,  
PO Box 202, Purwokerto 53182*

**ABSTRAK**

Kacang hijau merupakan bahan makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Kacang hijau mengandung gizi yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Salah satu gizi yang terkandung adalah vitamin E. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar vitamin E pada kacang hijau serta mempelajari pengaruh pemanasan terhadap kandungan vitamin E nya. Persiapan sampel sebelum penetapan kadar dilakukan dengan pemanasan selama waktu yang berbeda. Masing-masing kacang hijau setelah perlakuan dianalisis kandungan vitamin E nya. Analisis kandungan vitamin E dilakukan dengan metode spektrofotometri setelah pembentukan kompleks warna merah menggunakan reagen ferri klorida dan 2,2'bipiridil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum vitamin E yang diperoleh adalah 520 nm dan *operating time* pada menit ke 5, dan dengan persamaan kurva baku  $y = 0,604X + 0,047$  ( $r=0,998$ ). Berdasarkan uji analisis varian (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar vitamin E dalam kacang hijau dengan lama pemanasan yang berbeda. Pemanasan dapat menurunkan kadar vitamin E pada kacang hijau. Dalam hasil rebusan kacang hijau, ditemukan sedikit jumlah vitamin E, karena vitamin ini sulit larut dalam air.

**Kata Kunci :** kacang hijau, vitamin E, spektrofotometri UV-Vis

**ABSTRACT**

*Vigna radiata L. is a food consumed by people. One of nutrient content in Vigna radiata L. is vitamin E. The purpose of this research is determining content of vitamin E at Vigna radiata L. and studying influence of heating towards its vitamin E content. The sample Vigna radiata L. were heated for different heating time, vitamin E content analyzed with UV-Vis spectrophotometry method after complex formation by adding ferri chloride and 2,2'bipridil. The result showed that maximum wavelength is 520 nm and operating time at minute five, and calibration curve equation is  $y = 0.604 x + 0.047$  ( $r=0.998$ ). Based on one-way ANOVA test and LSD test subsequently was obtained significant difference between vitamin E content with different heating time. It was found a little amount of vitamin E in water because this vitamin insoluble in water.*

**Keywords:** *Vigna radiata L., vitamin E, spectrophotometry UV-Vis*

## Pendahuluan

Kacang hijau merupakan bahan makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia dan banyak negara Asia lainnya. Kandungan gizi dalam kacang hijau sangat berguna khususnya untuk pasien penyakit beri-beri (Kartasapoetra, 2003).

Salah satu zat yang terkandung dalam kacang hijau adalah vitamin E (Andrawulan & Koswara, 1989). Fungsi vitamin E adalah sebagai antioksidan dan anti radikal bebas (Suprpto, 1982). Agar diperoleh rasa yang nikmat, lazimnya sebelum dikonsumsi kacang hijau harus diolah terlebih dahulu. Akan tetapi kandungan gizi kacang hijau akan berbeda untuk setiap olahannya. Pada umumnya kacang hijau diolah dengan pemanasan. Akan tetapi masyarakat belum mengetahui bahwa dengan pengolahan yang salah akan menyebabkan vitamin E yang dikandungnya akan rusak (Andrawulan & Koswara, 1989).

Sifat vitamin E (tokoferol) cukup tahan terhadap panas. Akan tetapi kehilangan kandungan vitamin E terjadi selama proses pengolahan bahan pangan sebagian besar karena reaksi oksidasi. Hal ini disebabkan karena tokoferol merupakan antioksidan

sehingga mudah dioksidasi terutama dengan adanya oksigen pada suhu yang tinggi yang berakibat penghilangan fraksi lemak. Pada proses pemasakan yang normal dilaporkan tidak ada kehilangan vitamin E (Andrawulan & Koswara, 1989).

Metode yang biasa digunakan untuk penetapan kadar vitamin E menurut keadaan sampel yaitu titrasi serimetri, pengukuran fotometri sebagai "tokoferol merah" dan penetapan kadar secara fotometri dengan ferri klorida dan 2,2'bipiridil. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penetapan kadar secara spektrofotometri dengan ferri klorida dan 2,2'bipiridil, karena metode ini dapat menetapkan vitamin E dalam jumlah kecil baik dalam sediaan farmasi maupun dalam bahan makanan. Dalam penelitian ini dipelajari pengaruh pemanasan terhadap kadar vitamin E pada kacang hijau secara spektrofotometri sinar tampak.

## Metode Penelitian

### Bahan dan Alat

Bahan: kacang hijau;  $\alpha$ -tokoferol p.a (Merck); kalium hidroksida p.a.; 2,2'bipiridil p.a.; ferri klorida p.a.;

natrium sulfat anhidrat p.a.; petroleum eter; aquadestilata; etanol absolut.

Alat: neraca analitik (Shimadzu), mortir dan stamper, penangas air, kompor, sentrifuge, oven (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-101 tipe 1).

### Cara Kerja

#### Penyiapan Sampel

Sampel kacang hijau diperoleh di Pasar Purwosari kemudian ditimbang 500,0 gram dan dibagi menjadi 5 kelompok.

#### a. Kelompok 1

Kacang hijau 100,0 gram digerus sampai halus dan dilakukan penetapan kadar vitamin E yang dikandungnya.

#### b. Kelompok 2

Kacang hijau 150,0 gram ditambah 500 mL aquadestilata, dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit. Dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara kacang dan air rebusannya. Kacang yang telah dipanaskan ini ditimbang sebanyak 100 gram, digerus sampai halus dan ditetapkan kadar vitamin E nya. Pada air rebusan juga dilakukan penetapan kadar vitamin E.

#### c. Kelompok 3

Perlakuan sama seperti pada kelompok 2 hanya waktu perebusan selama 30 menit.

#### d. Kelompok 4

Perlakuan sama seperti kelompok 2 hanya waktu perebusan 45 menit.

#### e. Kelompok 5

Perlakuan sama seperti kelompok 2 hanya waktu perebusan 60 menit.

#### Penetapan Kadar Air

Sampel kacang hijau dari tiap kelompok ditimbang seksama kemudian dikeringkan di dalam oven selama 2-3 jam pada suhu 105°C. Kemudian ditimbang dan diulangi pemanasan sampai diperoleh perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% dengan jeda waktu 1 jam (Anonim, 1995).

#### Penetapan Kadar Vitamin E

#### a. Pembuatan larutan baku tokoferol

Ditimbang 100 mg  $\alpha$ -tokoferol dan dilarutkan dengan seksama dalam etanol absolut hingga volume 10 mL, kemudian dipipet 1 mL dan ditambah etanol sampai volume 100 mL. Diambil kembali 5 mL larutan tersebut dan diencerkan dengan etanol absolut sampai volume 100 mL (Strohecker & Henning, 1965).

#### b. Penentuan *operating time*

Dipipet 2,0 mL larutan baku tokoferol dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL lalu ditambahkan 1,0 mL larutan 2,2'bipiridil dan 1,0 mL larutan ferri klorida, kemudian ditambahkan etanol sampai tanda. Larutan dibaca serapannya setiap selang waktu yang telah ditentukan sampai diperoleh serapan yang stabil (Strohecker & Henning, 1965).

c. Penentuan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum

Dilakukan penyiapan larutan seperti pada penentuan *operating time* kemudian larutan dibaca serapannya pada spektrofotometer ultraviolet visibel pada panjang gelombang 400-800nm untuk mencari panjang gelombang dengan serapan maksimum.

d. Pembuatan Kurva baku tokoferol

Ke dalam 4 buah labu takar 25 mL dimasukkan masing-masing 1,0; 2,0; 3,0; dan 10,0 mL larutan stok baku tokoferol. Ke dalam 4 buah labu takar 10 mL lain dimasukkan masing-masing 1,0; 2,0; 3,0; dan 5,0 mL larutan stok baku tokoferol. Ke dalam masing-masing labu takar ditambahkan 1,0 mL larutan 2,2'bipiridil dan 1,0 mL larutan ferri klorida, kemudian diencerkan dengan etanol sampai tanda. Serapan dibaca pada  $\lambda$  maks dan dibuat kurva

hubungan antara konsentrasi vitamin E dan serapan sehingga diperoleh persamaan garis lurus.

e. Penetapan kadar vitamin E pada kacang hijau

Ditimbang seksama 100 g kacang hijau, digerus halus dan dimasukkan ke labu alas bulat leher panjang yang berisi 100 mL etanol. Campuran segera direfluks di atas penangas air selama 30 menit dengan penambahan 10,0 mL kalsium hidroksida yang dibuat baru. Hasil refluks didinginkan, disaring dan dipindahkan ke dalam corong pisah 250 mL dengan penambahan 50 mL aquadestilata, lalu diekstraksi dengan 50 mL petroleum eter. Hasil ekstraksi pertama dicuci dengan 50 mL aquadestilata dan diulangi sampai cairan cucian tidak memberikan warna merah. Fase petroleum eter dipisahkan dan ditambah 2 g serbuk natrium sulfat anhidrat, kemudian disentrifugasi selama 15 menit. Jernihan dipindahkan ke labu takar 100 mL dan diencerkan dengan petroleum eter sampai tanda. Diambil 25,0 mL larutan tersebut, dimasukkan ke cawan dan dengan hati-hati diuapkan di atas penangas air. Hasil residu yang diperoleh diambil 1,0 mL dan diencerkan dengan etanol sampai

volume 10,0 mL. Diambil kembali 5,0 mL larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, ditambahkan 1 mL larutan 2,2'bipiridil dan 1 mL larutan ferri klorida serta etanol sampai tanda. Serapan diukur pada  $\lambda$  maks.

f. Penetapan kadar vitamin E pada air rebusan

Diambil 25,0 mL sampel air rebusan kacang hijau, dimasukkan ke labu alas bulat berleher panjang yang berisi 100 mL etanol. Kemudian diperlakukan sama seperti pada penetapan kadar vitamin E pada kacang hijau

## Hasil dan Pembahasan

### Hasil penetapan kadar air

Penetapan kadar air digunakan untuk menyatakan berat vitamin E pada sampel kering. Berdasarkan hasil penetapan diperoleh kadar air pada sampel kacang hijau dengan perlakuan yang berbeda (tabel 1). Semakin lama waktu pemanasan kacang hijau diperoleh kadar air yang semakin meningkat.

### Optimasi Kondisi Metode Spektrofotometri UV-Vis

Metode penetapan kadar vitamin E yang digunakan dalam penelitian ini adalah secara fotometri dengan pereaksi ferri klorida dan 2,2'bipiridil. Metode ini berdasarkan reaksi oksidasi vitamin E dalam larutan beralkohol dengan ferri klorida, penambahan 2,2'bipiridil menghasilkan warna merah dengan ferro klorida hasil reduksi ferri klorida oleh vitamin E. Dengan kondisi yang tepat, metode ini cocok untuk pemeriksaan vitamin E sebab metode ini sederhana dan sangat reproduibel. Metode ini hanya dapat digunakan jika vitamin E berada dalam keadaan bebas, sehingga sampel yang akan dianalisis pertama-tama harus disabunkan terlebih dahulu. Proses penyabunan akan menghilangkan zat-zat pengotor seperti vitamin A, karotenoid dan beberapa sterol yang terdapat dalam sampel (Strohecker & Henning, 1965).

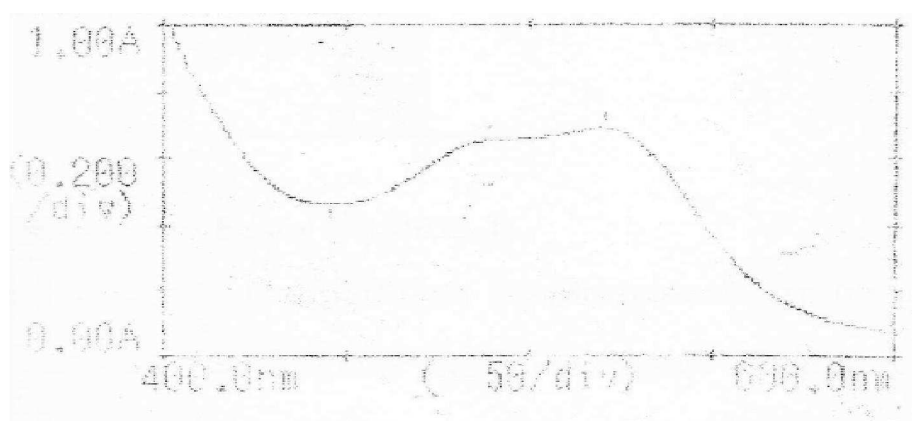
**Tabel 1** Kadar air sampel kacang hijau pada berbagai perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Kadar air (%)
1	Tanpa pemanasan	10,95
2	Pemanasan 100°C selama 15'	17,20
3	Pemanasan 100°C selama 30'	26,30
4	Pemanasan 100°C selama 45'	41,37
5	Pemanasan 100°C selama 60'	44,30

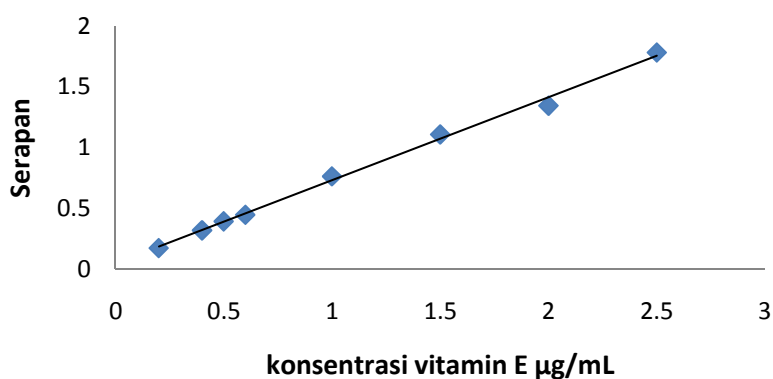
Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui panjang gelombang dengan nilai serapan maksimum pada spektrofotometri UV-Vis. Keuntungan pembacaan serapan pada panjang gelombang maksimum adalah untuk memperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Berdasarkan hasil *scanning* pada panjang gelombang 400-800 nm diperoleh panjang gelombang maksimum untuk analisis vitamin E

dengan pereaksi ferri klorida dan 2,2'bipiridil adalah pada 520 nm.

*Operating time* ditentukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan campuran reaksi sampai diperoleh nilai serapan hasil pengukuran yang stabil. Berdasarkan hasil optimasi maka diperoleh *operating time* pada analisis vitamin E ini adalah 5 menit. Jadi semua campuran reaksi dibiarkan selama waktu tersebut sebelum dilakukan pengukuran serapan.



**Gambar 1.** Hasil *Scanning* kompleks merah antara Fe<sup>2+</sup> dengan 2,2'bipiridil



**Gambar 2.** Kurva hubungan konsentrasi vitamin E dan serapan

**Tabel 2** Kadar vitamin E dalam kacang hijau dengan berbagai perlakuan

No.	Tanpa pemanasan	Kadar (% b/b)			
		Pemanasan 100°C selama 15'	Pemanasan 100°C selama 30'	Pemanasan 100°C selama 45'	Pemanasan 100°C selama 60'
1	4,04	3,15	2,83	1,79	1,72
2	4,09	3,49	2,60	1,86	1,66
3	4,14	3,23	2,26	1,83	1,68
Rata-rata	4,09	3,29	2,56	1,83	1,68
SD	0,05	0,17	0,29	0,03	0,03

Untuk menentukan konsentrasi vitamin E dalam sampel kacang hijau maka dibuat kurva baku vitamin E yaitu kurva hubungan antara konsentrasi vitamin E dan serapan. Persamaan garis lurus yang diperoleh adalah  $y = 0,604 x + 0,047$  ( $r=0,998$ ). Dilihat dari tabel nilai kritis  $r$  dengan derajat bebas 6, maka dapat diperoleh  $r$  hitung lebih besar dari  $r$  tabel (0,7067) (Ghozali, 2001) yang menunjukkan bahwa adanya hubungan yang berbanding lurus antara konsentrasi vitamin E dan serapan.

Batas deteksi (*limit of detection* / *LOD*) dan batas kuantitasi (*limit of quantitation* / *LOQ*) ditentukan dari persamaan kurva baku. Diperoleh hasil LOD dan LOQ berturut-turut sebesar 1,10 dan 1,52 µg/mL.

Hasil Penetapan Kadar Vitamin E pada sampel kacang hijau dan air rebusan

Kadar vitamin E pada padatan kacang hijau dengan 5 variasi perlakuan dapat dilihat pada tabel 2. Dari hasil

tersebut dapat diketahui bahwa proses pengolahan dengan pemanasan dapat berakibat berkurangnya kadar vitamin E yang dikandungnya. Berdasarkan uji analisis varian (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar vitamin E dalam kacang hijau dengan lama pemanasan yang berbeda.

Sisa air rebusan juga dilakukan penetapan kadar vitamin E dengan cara yang sama dengan padatan kacang hijau. Namun ternyata dengan reaksi dengan ferri klorida dan 2,2'bipiridil tidak menunjukkan hasil yang dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV-Vis yang digunakan dalam penelitian ini.

### Kesimpulan

Proses pemanasan mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap kadar vitamin E sehingga proses pengolahan dengan pemanasan dapat

menurunkan kadar vitamin E pada kacang hijau.

SPSS, Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.

#### Daftar Pustaka

Andrawulan, N. dan Koswara, S., 1989, Kimia Vitamin, Rajawali Press, Jakarta, 209-216

Anonim, 1995, Farmakope Indonesia, Edisi keempat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1036, 1043

Ghozali, I., 2001, Aplikasi Analisis Multivariat dengan Program

Kartasapoetra dan Masetyo, 2003, Ilmu Gizi, PT. Bineka Cipta, Jakarta.

Strohecker, R., dan Henning, H.M., 1965, Vitamin Assay, Tested Methods, Veilay Chemie, GMBH, Germany, 360.390.

Suprpto dan Sutarman, T., 1982, Bertanam Kacang Hijau, PT. Penebar Swadaya Anggota IKAPI, Jakarta.